

DOCKET NO.: 270131US0PCT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Jindrich RICHTER, et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HEREWITH

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/CZ03/00056

INTERNATIONAL FILING DATE: October 21, 2003

FOR: A NEW CRYSTALLINE FORM OF THE SODIUM SALT OF 3-PYRIDYL-1-HYDROXYETHYLIDENE-1,1-BISPHOSPHONIC ACID

REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119
AND THE INTERNATIONAL CONVENTION

Commissioner for Patents
Alexandria, Virginia 22313

Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:


COUNTRY
Czech Rep.

APPLICATION NO
PV 2002-3574

DAY/MONTH/YEAR
25 October 2002

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. PCT/CZ03/00056. Receipt of the certified copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

Respectfully submitted,
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Norman F. Oblon
Attorney of Record
Registration No. 24,618
Surinder Sachar
Registration No. 34,423

Customer Number
22850

(703) 413-3000
Fax No. (703) 413-2220
(OSMMN 08/03)

10/531877

PCT/CZ03/00056

REC'D 29 OCT 2003	
WIPO	PCT

ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLUVÉHO VLASTNICTVÍ

potvrzuje, že
LÉČIVA, A.S., Praha, CZ

podal(i) dne 25.10.2002

příhlášku vynálezu značky spisu PV 2002 - 3574

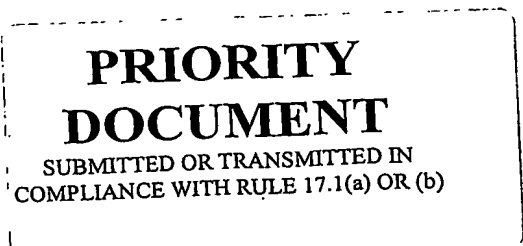
a že připojený popis a 8 výkresů se shoduje úplně
s původně podanými přílohami této přihlášky.



Za předsedu: Ing. Jan Mrva



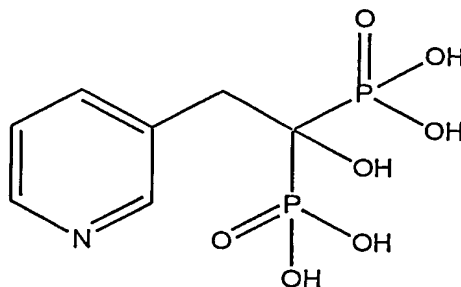
ze dne 2.10.2003



Nová krystalická forma sodné soli kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové

Oblast techniky

Vynález se týká nových krystalických hydrátů kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové vzorce



kyselina risedronová

resp. jejich solí a způsobu jejich výroby.

Dosavadní stav techniky

Geminální bisfosfonáty, jako například soli 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové kyseliny (risedronát) nebo 4-amino-1-hydroxybutyliden-1,1-bisfosfonové kyseliny (alendronát), jsou již delší čas používány k léčbě nemocí kostí a k úpravě metabolismu vápníku.

Příprava risedronové kyseliny spočívá v reakci kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové s kyselinou fosforitou a chloridem fosforitým a následné hydrolýze vzniklých intermediátů. Obecná metoda této přípravy bisfosfonových kyselin byla uvedena v JP 80-98193 (1980), JP 80-98105 (1980) firmy Nissan Chemical Industries a v článku W. Ploger et al., Z. Anorg. Allg. Chem., 389, 119, (1972). Příprava risedronátu byla uvedena v EP 186405 (1986) firmy Procter & Gamble.

Bisfosfonové kyseliny jsou používány ve formě různých netoxických a farmaceuticky akceptovatelných esterů, solí alkalických kovů a kovů alkalických zemin a jejich různých hydrátů. Forma substance může mít zásadní vliv na její rozpustnost a její biologickou dostupnost. Preferovanou formou risedronátu je sodná a vápenatá sůl.

3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonová kyselina je používána zejména ve formě monosodné soli (risedronát sodný). Tato sůl, podobně jako řada dalších geminálních bisfosfonových kyselin a jejich solí, je schopna tvořit hydráty. Dosud byla popsána bezvodá krystalická forma 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu monosodného, jeho monohydrát a pentahemihydrát a to v přihlášce WO 0156983 A2 firmy Procter & Gamble. Z obou uvedených hydrátů je termodynamicky stálá pouze forma pentahemihydrátu. Monohydrát samovolně přechází na stabilní pentahemihydrát.

Nevýhodou nižších hydrátů nebo bezvodých forem 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu monosodného je jejich hygroskopičnost a s ní související nestabilita obsahu účinné látky. Pokles obsahu účinné složky s časem, pak znamená omezenou dobu skladovatelnosti látky. Hygroskopičnost může dále způsobovat nestabilitu farmaceutického přípravku. Například u tablet může vlivem vzdušné vlhkosti docházet k jejich rozpadu.

U farmaceutického přípravku obsahujícího směs monohydrátu a hemipentahydrátu 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu monosodného, jak je popsán ve WO 0156983, může být zdrojem nestability zejména monohydrát, o němž je známo, že není termodynamicky stálý.

Řešení pomocí dvojitých nebo hermeticky uzavřených obalů, popřípadě s přidáním vysoušecího činidla do balení vždy vyvolá další náklady na výrobu.

Tento problém je řešen předkládaným vynálezem, který se týká nových stabilních hydrátů sodných solí kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové. Tyto hydráty jsou navíc lépe rozpustné ve zředěné kyselině chlorovodíkové, která tvoří žaludeční šťávy.

Podstata vynálezu

Definice pojmů použitých v popisu vynálezu:

Pod pojmem risedronová kyselina se rozumí 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonová kyselina.

Pojem risedronát představuje jak kyselinu risedronovou, tak její farmaceuticky využitelné soli.

Pod pojmem monohydrát sodné soli risedronátu se rozumí krystalická forma 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu monosodného, která obsahuje od 5 do 7,1 hmotnostních % vody a od 5,5 do 7,5% sodíku vztaženého na bezvodou sůl.

Pod pojmem pentahemihydrát sodné soli risedronátu se rozumí krystalická forma 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu monosodného, která obsahuje od 11,9 do 13,9 hmotnostních % vody a 5,5 až 7,5% sodíku vztaženého na bezvodou sůl.

Pod pojmem pentahydrát sodné soli risedronátu se rozumí krystalická forma 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu monosodného, která obsahuje od 20 do 23 % hmotnostních vody a 5,5 až 7,5% sodíku vztaženého na bezvodou sůl.

Pod pojmem monohydrát disodné soli risedronátu se rozumí krystalická forma 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu disodného, která obsahuje 4,5 až 6,5 % vody a 13 až 15 % sodíku vztaženého na bezvodou sůl.

Pod pojmem trihydrát trisodné soli risedronátu se rozumí krystalická forma 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu trisodného, která obsahuje 12 až 14 % vody a 19 až 21 % sodíku vztaženého na bezvodou sůl

Není-li uvedeno jinak, jsou v tomto spise všechny procentuální údaje uvedeny ve hmotnostních procentech.

Náš vynález se týká 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu sodného (risedronátu sodného) v dosud nepopsaných krystalických formách. Přesněji řečeno, jedná se o hydráty, které obsahují 6,4 až 22 % sodíku a současně 15 až 23 % krystalické vody, je-li obsah sodíku menší než 7,5 %, nebo 4,5 až 18 %, je-li obsah sodíku větší než 7,5 %.

Výhodným případem takového hydrátu je modifikace, která se vyznačuje obsahem vody 20 až 23 %, speciálně s obsahem vody 22,8 % hmotnostních, a obsahem sodíku 5,5 až 7,5 %, speciálně 6,4 až 6,7 % hmotnostních. Uvedené množství vody je zabudováno v krystalové mřížce a uvedená krystalová modifikace je termodynamicky stálá. Sušením několika různými sušicími režimy byla uvedená krystalová modifikace usušena na obsah vody odpovídající pentahemihydrátu, monohydrátu a bezvodé formě 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu sodného. Volným stáním substance se obsah vody samovolně ustálí na původní hodnotě. Doba, za jakou k tomuto ustálení množství obsažené vody dojde, je závislá na relativní vlhkosti prostředí, ve kterém je usušená substance umístěna. Pohybuje se v rozmezí 2 až 12 hodin u látky vysušené na úroveň pentahemihydrátu a v rozmezí 2 hodiny až 12 dní u substance vysušené na úroveň monohydrátu.

Uvedená nová krystalová forma se také vyznačuje lepší rozpustností v kyselině chlorovodíkové 0,1N (pH 1,1), což je výhodné pro biologickou dostupnost substance.

Nová krystalická forma byla dále charakterizována práškovým rentgenovým difraktogramem, infračervenou spektroskopií, CP-MAS NMR v pevné fázi a termogravimetrickou analýzou.

Výhodná struktura tohoto hydrátu je charakterizována difraktogramem s mezirovinovými vzdálenostmi d přibližně 16,3; 13,0; 9,1 a 4,9 Å.

Jinou charakteristiku poskytuje infračervené spektrum s pásy 1169; 1060; 1046 a 891 cm^{-1} .

Termogravimetrická analýza výhodného složení poskytuje inflexní bod při teplotě asi 173 °C.

Jinou charakteristikou výhodné struktury hydrátu s daným složením je 31P CP-MAS NMR spektrum, které poskytuje signály 13,7 a 20,0 ppm. Tímto dubletem se významně odlišuje od dříve známého pentahemihydrátu, který poskytuje odpovídající singlet s posunem asi 15,9 ppm.

Jinou látkou s výhodnými vlastnostmi je hydrát risedronátu sodného s obsahem 12 až 14 % vody a 19 až 21 % sodíku vztaženo na bezvodou sůl. Sušením této látky za různých podmínek a následným stáním v prostředí s vysokou relativní vlhkostí se obsah vody rovněž ustálí na dané hodnotě za dobu 2 hodiny až 12 dní, většinou však za méně než 12 hodin. Rovněž tato modifikace je tedy ve vlhkém prostředí stálá.

Výhodná struktura látky je charakterizována infračerveným spektrem s pásy přibližně 1114; 1085; 956; 616 a 544 cm^{-1} .

Další z výhodných látek je monohydrát disodné soli risedronátu, která obsahuje 4,5 až 6,5 % vody a 13 až 15 % sodíku vztaženo na bezvodou sůl. Sušením této látky za různých podmínek a následným stáním v prostředí s vysokou relativní vlhkostí se obsah vody rovněž ustálí na dané hodnotě za dobu 2 hodiny až 12 dní, většinou však za méně než 12 hodin. Rovněž tato modifikace je tedy ve vlhkém prostředí stálá.

Výhodná struktura látky je charakterizována infračerveným spektrem s pásy přibližně 1183; 1158; 1071 a 1042 cm^{-1} .

Příprava hydrátů sodných solí 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu v nových krystalických formách spočívá v přípravě vodného roztoku 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu sodného, zahřátí roztoku na teplotu 50 až 80 °C a jeho nalití do podchlazeného organického rozpouštědla, zejména ze skupiny jednoduchých alkoholů z řady C_1 až C_5 , speciálně 2-propanolu. S výhodou je možné využití očkování několika krystalky příslušného hydrátu.

Pro svoji stabilitu ve vlhkém prostředí jsou tyto nové hydráty sodných solí kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové vhodné k použití jako účinná látka k léčbě nemocí spojených s poruchami resorpce kostí. K těmto onemocněním patří především

osteoporóza, a to jak spojená s hormonální změnou v určitém stádiu života žen, tak i osteoporóza indukovaná užíváním různých přípravků.

Preferovaná léková forma k využití těchto hydrátů je orální, speciálně ve formě tablet. Kromě účinné látky jsou pro výrobu tablety použita vhodná ředidla, pojiva, rozvolňovadla a kluzné látky.

Mimořádně vhodnou kombinací je přímo tabletovatelná směs, kde funkci ředidla vykonává směs látek manitol a mikrokrytalická celulóza. Tato kombinace prokazuje mimořádnou stabilitu, zejména ve vlhkém prostředí.

Přehled obrázků na výkresech

Obrázek 1 představuje XR difraktogram pentahydrátu monosodné soli risedronátu.

Obrázek 2 představuje srovnávací XR difraktogram pentahemihydrátu monosodné soli risedronátu.

Obrázek 3 představuje TGA pentahydrátu monosodné soli risedronátu.

Obrázek 4 představuje srovnávací TGA pentahemihydrátu monosodné soli risedronátu.

Obrázek 5 představuje ^{31}P CP-MAS NMR spektrum pentahydrátu monosodné soli risedronátu.

Obrázek 6 představuje srovnávací ^{31}P CP-MAS NMR spektrum pentahemihydrátu monosodné soli risedronátu.

Obrázek 7 představuje IČ spektrum pentahydrátu monosodné soli risedronátu.

Obrázek 8 představuje srovnávací IČ spektrum pentahemihydrátu monosodné soli risedronátu.

Obrázek 9 představuje IČ spektrum trihydrátu trisodné soli risedronátu.

Obrázek 10 představuje IČ spektrum monohydrátu disodné soli risedronátu.

Příklady provedení vynálezu

Obsah vody v substanci byl stanovován metodou dle Karl Fischera a pomocí TGA analýz. Obsah sodíku v substanci byl stanovován acidobazickou titrací a AAS. Zkoušky rozpustnosti substance byly provedeny dle Technical Guide European Pharmacopeia.

Příklad 1

Monohydrát 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové kyseliny se rozpustí ve 30-ti násobku destilované vody, obsahující jeden ekvivalent louhu sodného. Roztok se zahřeje na 80 °C a naráz vlije do 120-ti násobku 2-propanolu ochlazeného na teplotu -7 až -10 °C. Teplota roztoku po smíchání vystoupí na cca +7 °C. Během 5 minut se vznikající suspenze ochladí na -1 °C. Vznikající suspenze se udržuje 4 hodiny na této teplotě. Produkt se izoluje filtrací a suší se volně.

Zkouškou podle KF produkt obsahuje přibližně 22,8 % hmotnostních vody. Analýza sodíku AAS přepočtena na sušinu prokázala jeho obsah 6,6 % hmotnostních. Připravená látka poskytla difraktogram znázorněný na obrázku 1 a ^{31}P CP-MAS NMR spektrum znázorněné na obrázku 5.

Příklad 2

V pentahydrátu monosodné soli risedronátu (obsah vody asi 22,8 % hmotn.) sušeném ve vakuové sušárně při teplotě 50 °C klesne po 6-ti hodinách obsah vody v substanci na 11,5 %. Usušený produkt je hygroskopický. Volným stáním při laboratorní teplotě a při běžné relativní vlhkosti vzduchu se obsah vody vrátí během 12 hodin na původní hodnotu.

Příklad 3

V pentahydrátu sušeném ve vakuové sušárně při teplotě 105 °C klesne po 6-ti hodinách obsah vody v substanci na hodnotu 3 %. Usušený produkt je hygroskopický. Volným stáním při laboratorní teplotě a při běžné relativní vlhkosti vzduchu vzrůstá obsah vody rychlostí cca 0,5% za hodinu. Během 11 dnů se obsah vody v substanci vrátí na asi 20 % hmotnostních. Umístěním látky do prostoru se 100% relativní vlhkostí vzduchu se během dvou ~~hodin~~ dnů vrátí obsah vody v substanci na 22,7 %. Tento obsah vody je stálý a za běžných laboratorních podmínek neměnný.

Příklad 4

3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonová kyselina se rozpustí ve vodném roztoku louhu obsahující 4 ekvivalenty NaOH. Roztok se ohřeje na 70 °C a vlije se do 2-

propanolu podchlazeného na teplotu -7 až -10 °C. Postupně vypadne mléčně zbarvená hmota, která se při teplotě refluxu rozpouštědla rozpadne na pevnou bílou suspenzi. Po filtraci a usušení ve vakuové sušárně se získá produkt s 97% výtěžkem. Produktem je 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonát trisodný s obsahem sodíku asi 19,8 % hmotnostních (vztaženo na suchou sůl) a asi 12,7 % vody. Toto množství obsažené vody odpovídá trihydrátu 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu trisodného. IČ spektrum takto získané látky je znázorněno na obrázku 9.

Rozpuštěním 1 molárního ekvivalentu trisodné soli ve vodě se získá čirý roztok. Přidáním dvou molárních ekvivalentů risedronové kyseliny a zahřáním na 70 °C se získá čirý roztok monosodné soli, která se podle příkladu 1 získá v nové krystalové formě obsahující asi 22,8 % vody.

Příklad 5

3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonová kyselina se rozpustí ve vodném roztoku louhu obsahující 2 ekvivalenty NaOH. Roztok se ohřeje na 70 °C a vlije se do 2-propanolu podchlazeného na teplotu -7 až -10 °C. Téměř ihned vypadne mléčně zbarvená rosolovitá hmota, která se při teplotě refluxu rozpouštědla rozpadne na pevnou bílou suspenzi. Po ochlazení suspenze na laboratorní teplotu se produkt izoluje filtrací.

Získaný produkt po volném usušení obsahuje asi 14 % sodíku vztaženého na bezvodou substanci a asi 14 % vody. Po vysušení ve vakuové sušárně se obsah vody stabilizuje na hodnotě asi 5,2 %. Látka s tímto stabilizovaným obsahem vody poskytla IČ spektrum znázorněné na obrázku 10.

Příklad 6

Ke 100,25 mg vzorku pentahemihydrátu monosodné soli risedronátu bylo postupně přidáno 0,1 ml; 0,9 ml a 2,0 ml vody. Suspenze byla 1 min. míchána a 15 min temperována na 25 °C po každém přidavku vody. Za těchto podmínek byla látka zcela rozpuštěna. Podíl rozpuštěné látky byl určen pomocí HPLC jako 100%.

K 98,78 mg vzorku pentahydrátu monosodné soli risedronátu bylo postupně přidáno 0,1 ml, 0,9 ml a 2,0 ml vody. Suspenze byla 1 min. míchána a 15 min temperována na 25 °C po každém přidavku vody. Za těchto podmínek byl vzorek substance zcela rozpuštěn. Podíl rozpuštěné látky byl určen pomocí HPLC jako 100%.

Obě soli jsou dobře rozpustné ve vodě.

Příklad 7

Ke vzorku 106,08 mg vzorku pentahemihydrátu monosodné soli risedronátu bylo postupně přidáno 0,1; 0,9; 2,0 a 7,0 ml 0,1 M HCl o pH 1,1. Suspenze byla 1 min míchána a 15 min temperována na 25 °C po každém přidavku kyseliny. Vzorek nebyl zcela rozpuštěn. Podíl rozpuštěné látky byl určen pomocí HPLC jako 9,46%. Rozpuštěním pentahemihydrátu monosodné soli risedronátu v 0,1M HCl se tedy získá roztok o koncentraci aktivní složky 874 mg/l.

Ke vzorku 99,07 mg vzorku pentahydrátu monosodné soli risedronátu bylo postupně přidáno 0,1; 0,9; 2,0 a 7,0 ml 0,1 M HCl o pH 1,1. Suspenze byla 1 min. míchána a 15 min temperována na 25 °C po každém přidavku kyseliny. Vzorek nebyl zcela rozpuštěn. Podíl rozpuštěné látky byl určen pomocí HPLC jako 31,62%. Rozpuštěním pentahydrátu monosodné soli risedronátu v 0,1M HCl se získá roztok o koncentraci aktivní složky 2418 mg/l.

Z tohoto pokusu je zřejmé, že forma pentahydrátu monosodné soli risedronátu je výrazně rozpustnější v 0,1M kyselině chlorovodíkové než forma pentahemihydrátu monosodné soli risedronátu.

Příklad 8

V trihydrátu trisodné soli sušeném ve vakuové sušárně při teplotě 105 °C klesne po 6 hodinách obsah vody v substanci na hodnotu 1,1 %. Usušený produkt je hygroskopický. Umístěním látky do prostoru se 100% relativní vlhkostí vzduchu se během dvou hodin vrátí obsah vody v substanci na původní hodnotu. Tento obsah vody je stálý a za běžných laboratorních podmínek neměnný.

Příklad 9

V trihydrátu disodné soli sušeném ve vakuové sušárně při teplotě 105 °C klesne po 6 hodinách obsah vody v substanci na hodnotu přibližně 1,7 %. Usušený produkt je hygroskopický. Umístěním látky do prostoru se 100% relativní vlhkostí vzduchu se během

dvou hodin vrátí obsah vody v substanci na hodnotu přibližně 5,2. Tento obsah vody je stálý a za běžných laboratorních podmínek neměnný.

Příklad 10

Monohydrát 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové kyseliny se rozpustí v 10 násobku destilované vody, obsahující jeden ekvivalent louhu sodného. Roztok se zahřeje na 80 °C a přilije se do něj 3-násobek teplého 2-propanolu. Roztok se nechá samovolně chladnout na teplotu cca 62 °C a přisype se malé množství očkovacích krystalů pentahydrátu monosodné soli risedronátu a vznikající suspenze se nechá volně vypadávat. Produkt se odfiltruje při teplotě směsi 0 °C. Produkt se suší volně.

Zkouškou podle KF produkt obsahuje přibližně 22,8 % hmotnostních vody. Analýza sodíku AAS, přepočtená na sušinu, prokázala jeho obsah 6,6 % hmotnostních.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Krystalická, hydratovaná forma sodné soli kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové, kde tato forma obsahuje 6,4 až 22 % hmotnostních sodíku, vztaženo na bezvodou látku, a 15 až 23 % hmotnostních krystalické vody, je-li obsah sodíku menší než 7,5 % hmotnostních, nebo 4,5 až 18 % hmotnostních, je-li obsah sodíku větší než 7,5 % hmotnostních.
2. Krystalická forma podle nároku 1, kterou je pentahydrát monosodné soli kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové, kde tato forma obsahuje 20 až 23 % hmotnostních vody zabudovaných v krystalické mřížce a 5,5 až 7,5 % sodíku.
3. Krystalická forma podle nároku 2, kde tato forma obsahuje 22,8 % hmotnostních vody zabudovaných v krystalické mřížce a 6,4 až 6,7 % sodíku.
4. Krystalická forma podle nároku 2 nebo 3, kde tato forma vykazuje práškový rentgenový difraktogram s mezirovinnými vzdálenostmi d přibližně 16,3; 13,0; 9,1 a 4,9 Å.
5. Krystalická forma podle nároku 2 nebo 3, kde tato forma vykazuje infračervené spektrum s pásy 1169; 1060; 1046 a 891 cm^{-1} .
6. Krystalická forma podle nároku 2 nebo 3, jejíž termogravimetrická analýza vykazuje plato při teplotě asi 173 °C.
7. Krystalická forma podle nároku 2 nebo 3, jejíž ^{31}P CP-MAS NMR spektrum poskytuje signály 13,7 a 20,0 ppm.
8. Krystalická forma podle nároku 1, kterou je trihydrát trisodné soli kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové, kde tato forma obsahuje 19 až 21 % hmotnostních sodíku a 12 až 14 % hmotnostních vody v krystalické mřížce.

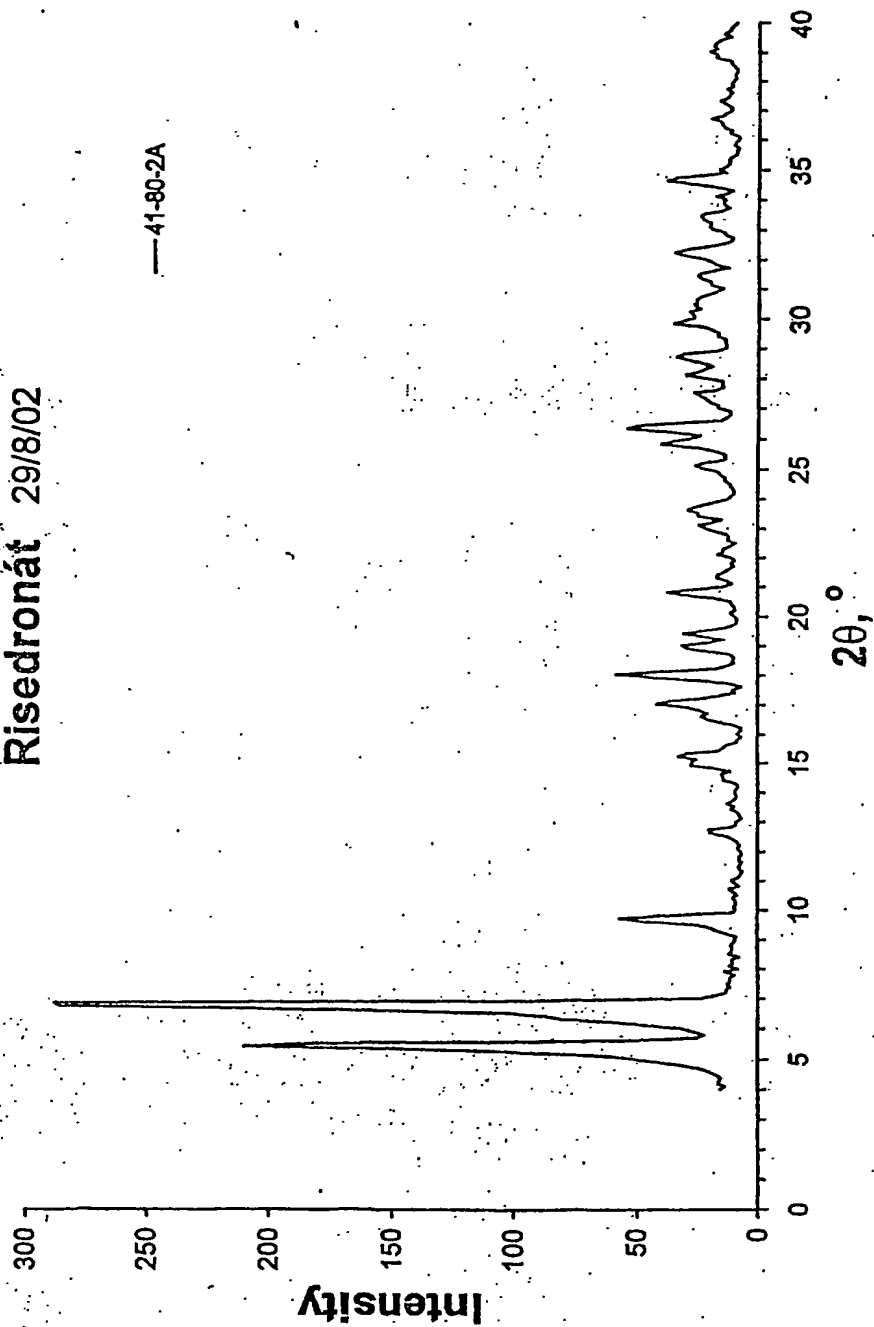
9. Krystalická forma podle nároku 8, kde tato forma vykazuje infračervené spektrum s pásy přibližně 1114; 1085; 956 ; 616 a 544 cm^{-1} .
10. Krystalická forma podle nároku 1, kterou je monohydrát disodné soli kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové, kde tato forma obsahuje 13 až 15 % hmotnostních sodíku, vztaženo na bezvodou látku, a 4,5 až 6,5 % hmotnostních vody v krystalické mřížce.
11. Krystalická forma podle nároku 10, kde tato forma vykazuje infračervené spektrum s pásy přibližně 1183; 1158; 1071 a 1042 cm^{-1} .
12. Způsob výroby krystalické formy podle kteréhokoli z předchozích nároků *vyznačující se* tím, že se vodný roztok sodné soli kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové ohřátý na 50 až 80 °C vpraví do organického rozpouštědla.
13. Způsob podle nároku 12 *vyznačující se* tím, že se organické rozpouštědlo volí ze skupiny jednoduchých alkoholů z řady C_1 až C_5 , speciálně 2-propanolu.
14. Způsob podle kteréhokoli z nároků 1 až 11, *vyznačující se tím*, že se do roztoku sodné soli 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové kyseliny předloží očkovací krystaly příslušného hydrátu sodné soli 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonátu a roztok se pozvolna chladí.
15. Způsob podle nároku 14, *vyznačující se tím*, že krystalizace se provádí z roztoku sodné soli ve směsi vody a s vodou mísitelné organické látky.
16. Farmaceutická kompozice určená k léčbě nemocí spojených s poruchou resorpce kostí, *vyznačující se tím*, že jako účinnou látku obsahuje hydrát sodné soli kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové podle kteréhokoli z nároků 1 až 11 a alespoň jednu pomocnou látku.

Anotace

Název vynálezu: Nová krystalická forma sodné soli kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové

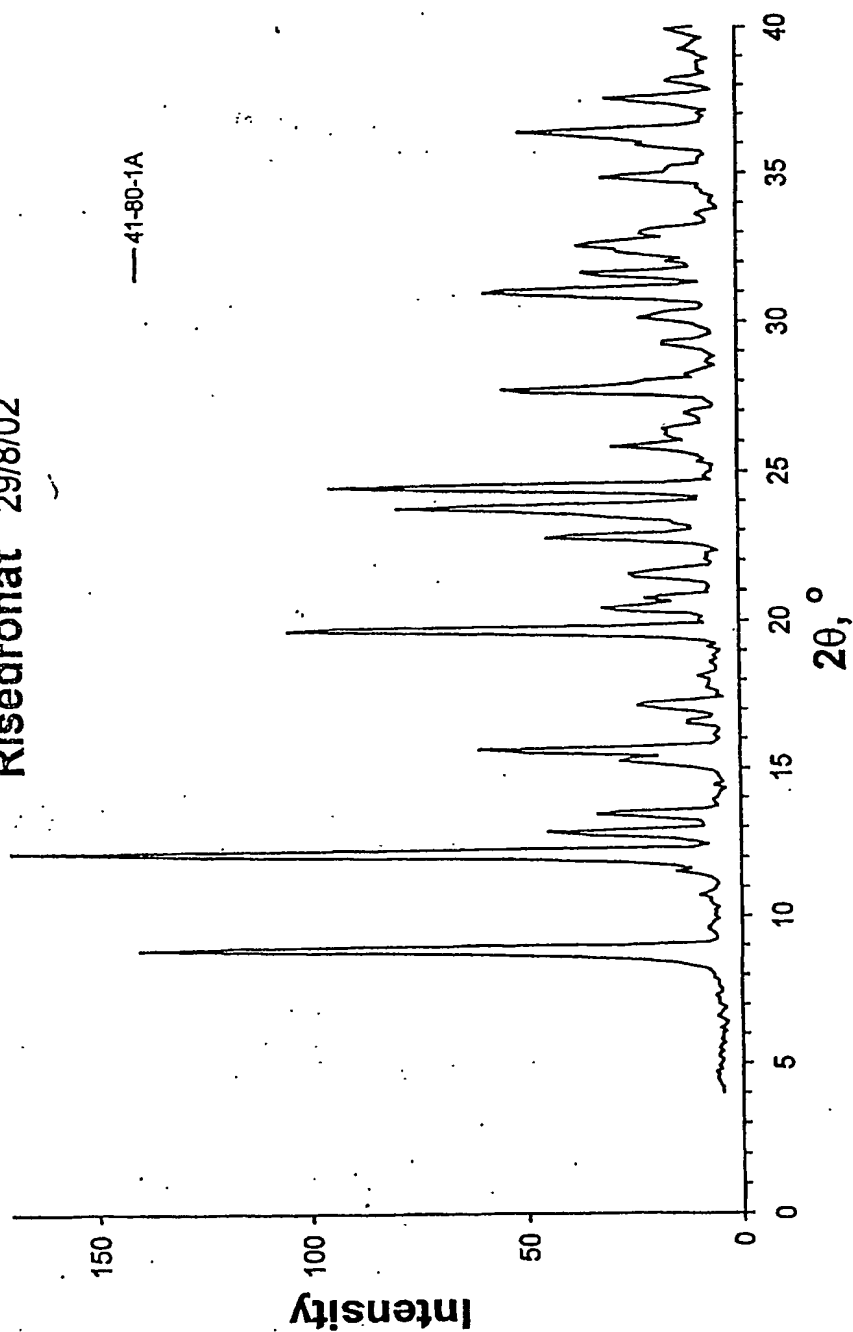
Krystalická, hydratovaná forma sodné soli kyseliny 3-pyridyl-1-hydroxyethyliden-1,1-bisfosfonové obsahuje 6,4 až 22 % hmotnostních sodíku, vztaženo na bezvodou látku, a 15 až 23 % hmotnostních krystalické vody, je-li obsah sodíku menší než 7,5 % hmotnostních, nebo 4,5 až 18 % hmotnostních, je-li obsah sodíku větší než 7,5 % hmotnostních.

Risedronát 29/8/02

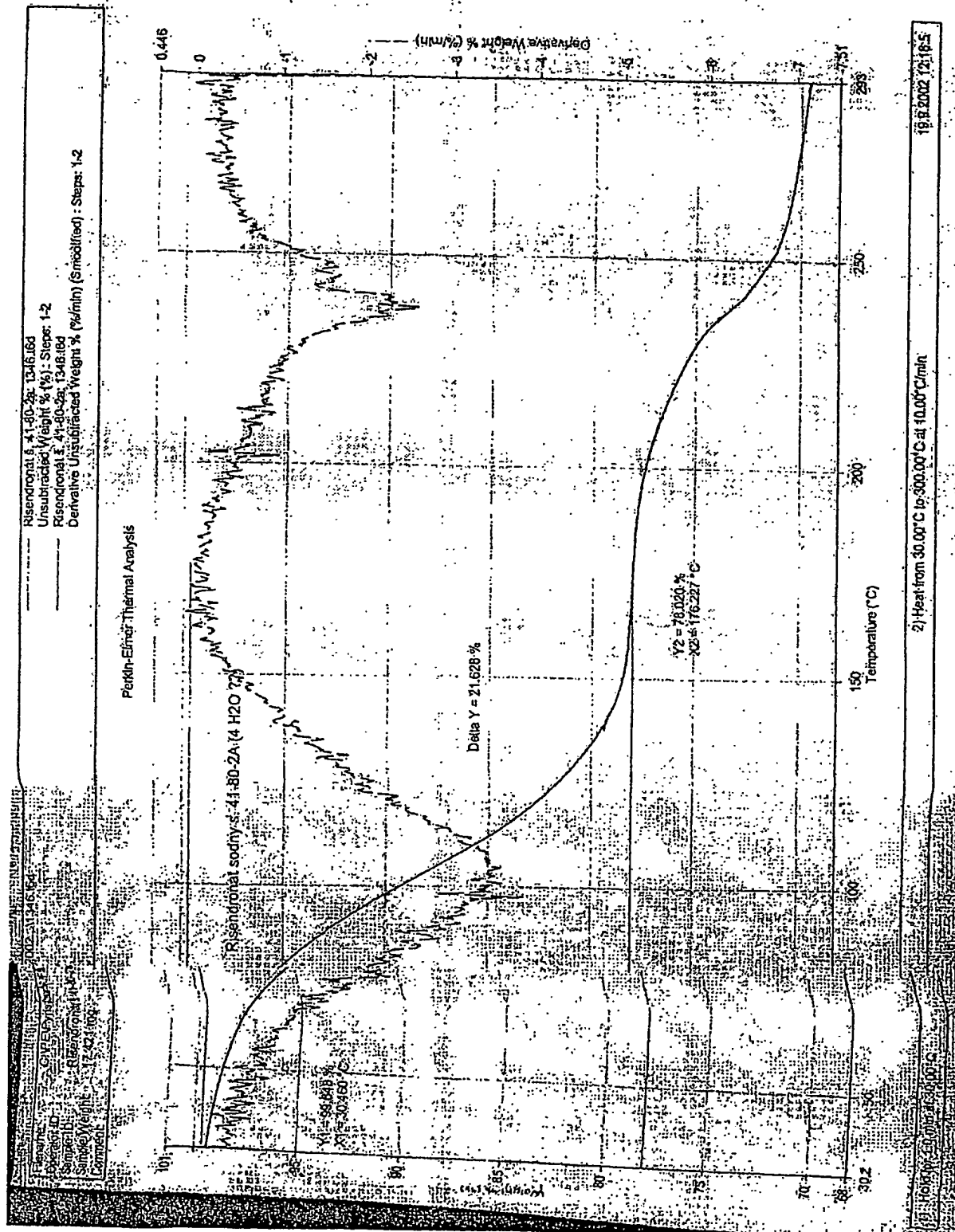


obrázek 1

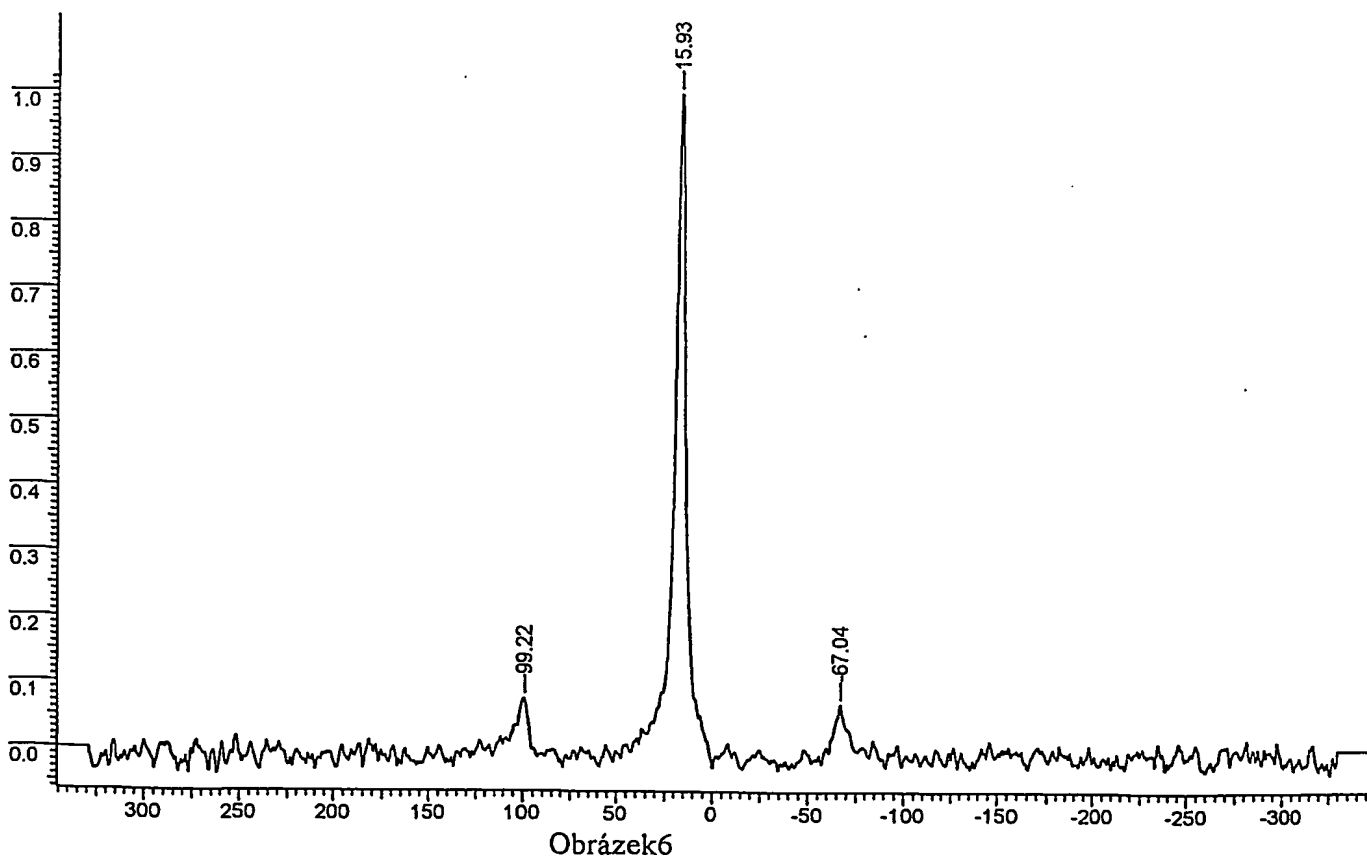
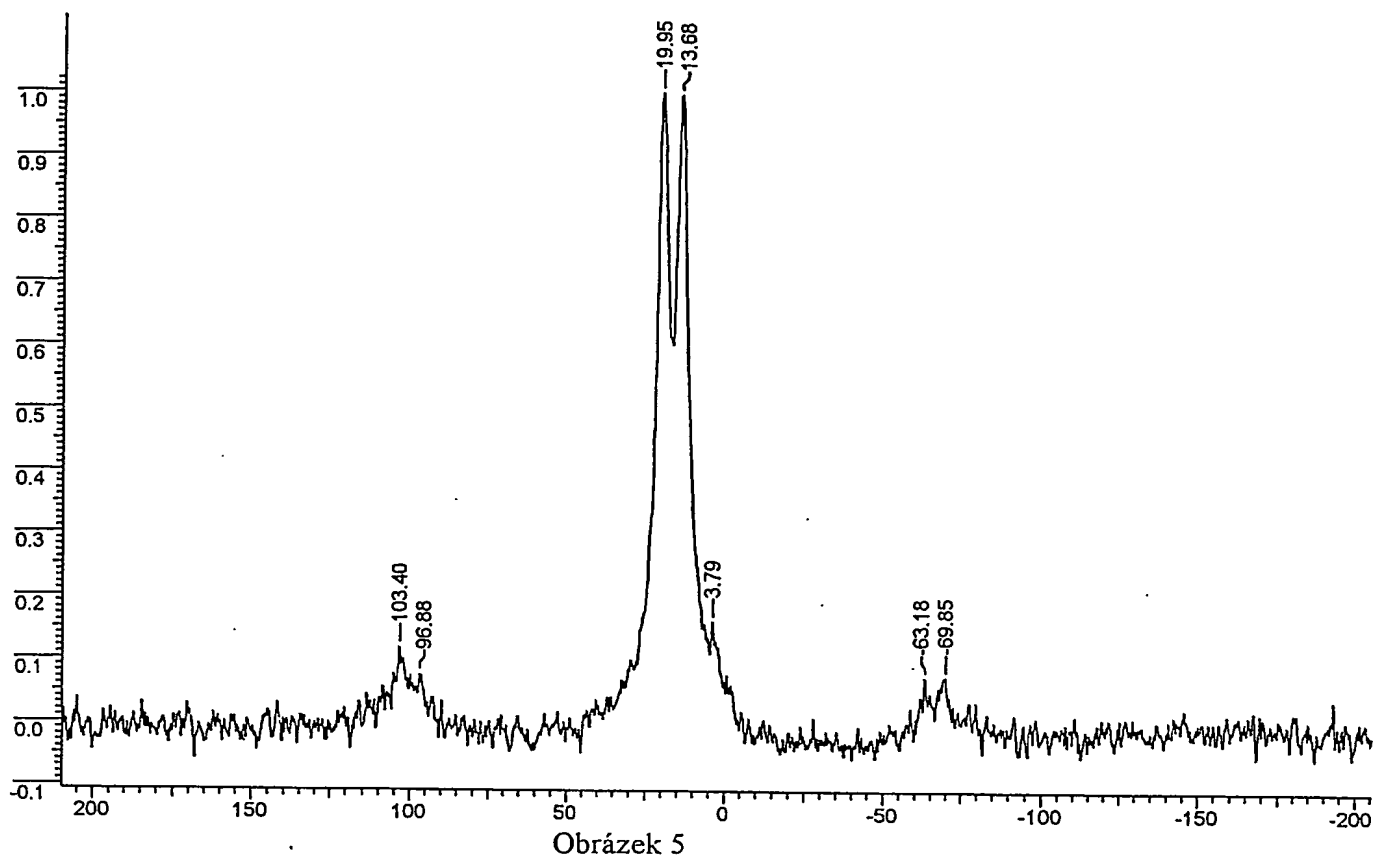
Risedronát 29/8/02

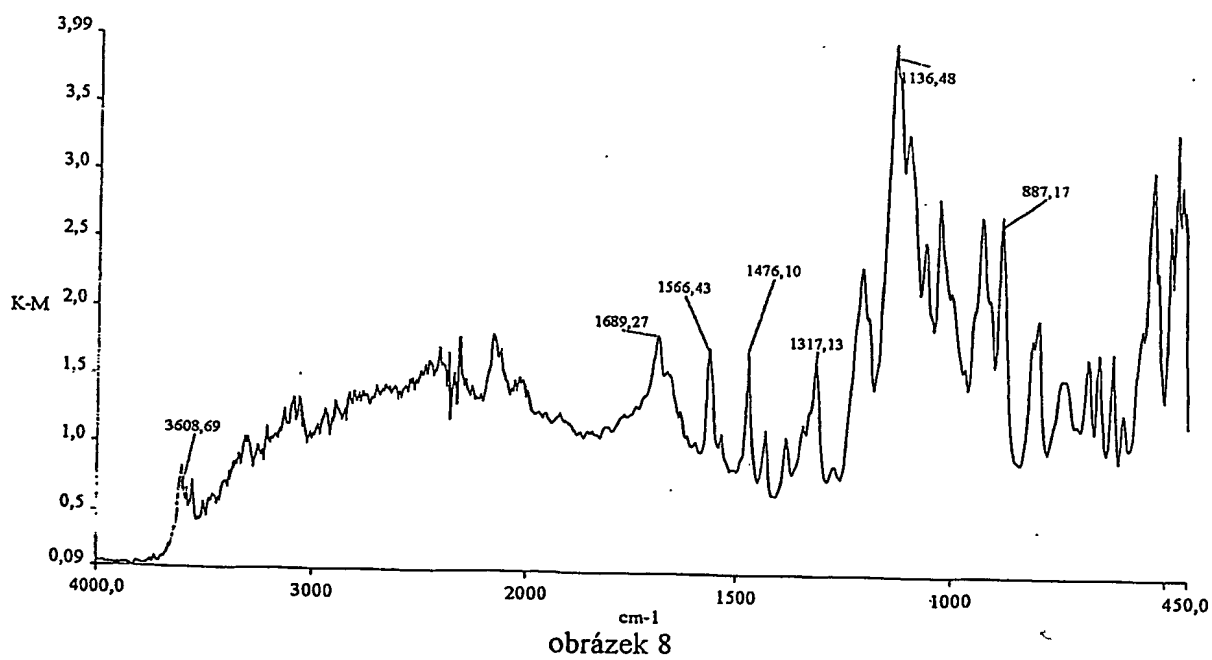
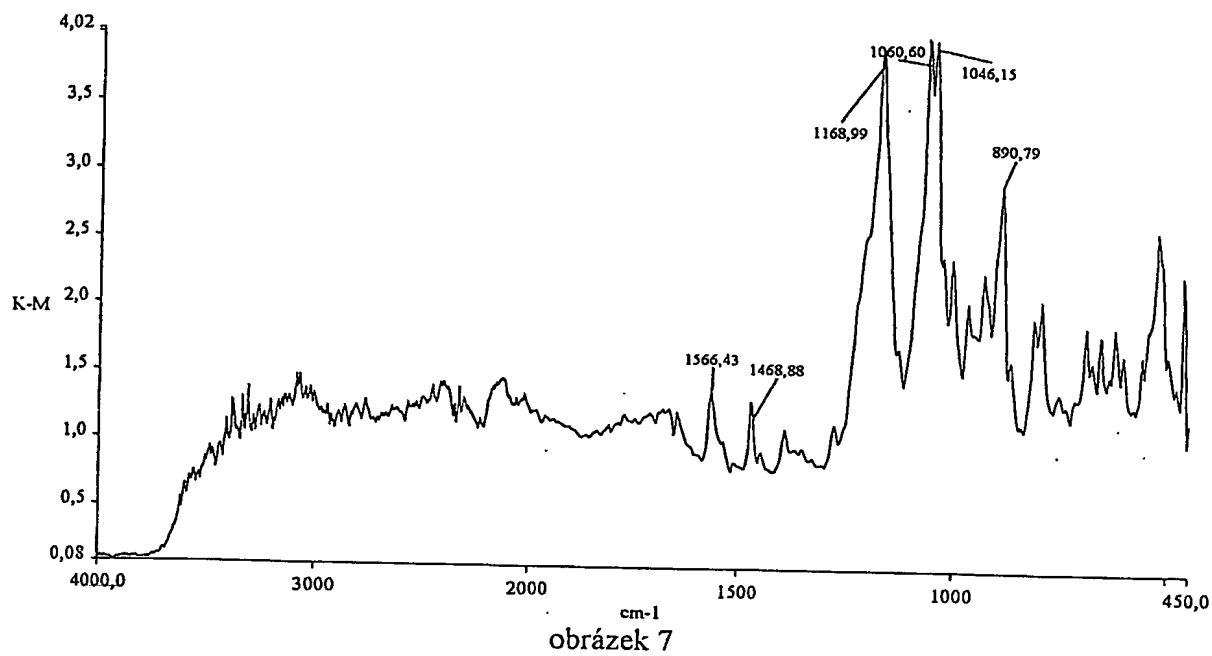


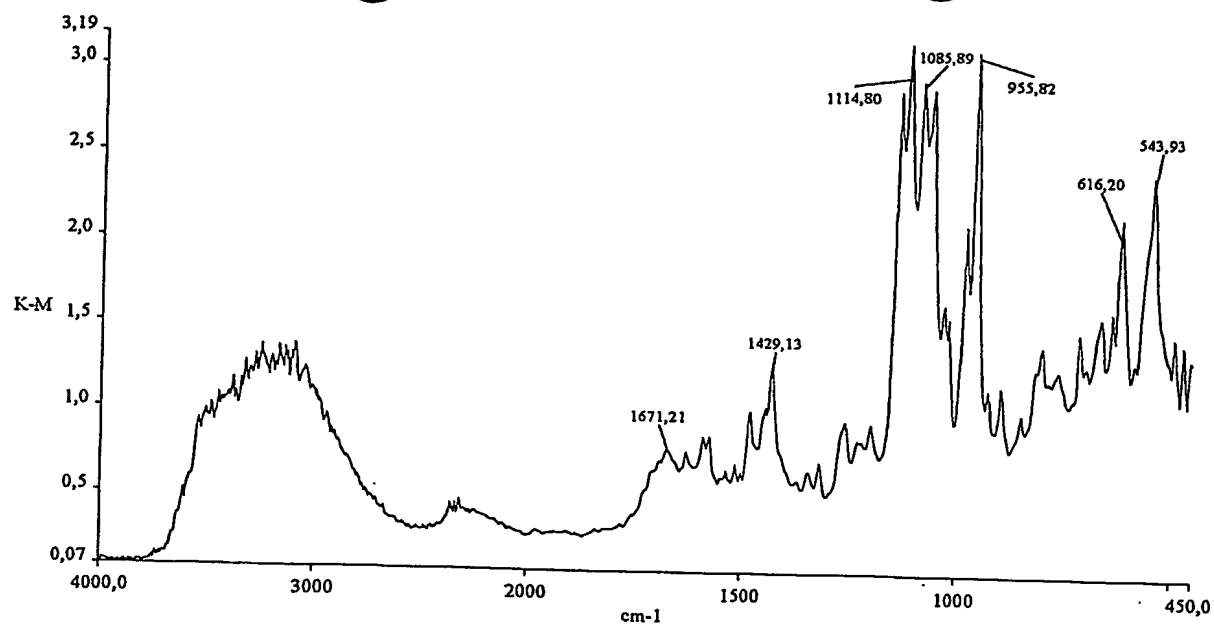
Obrázek 2



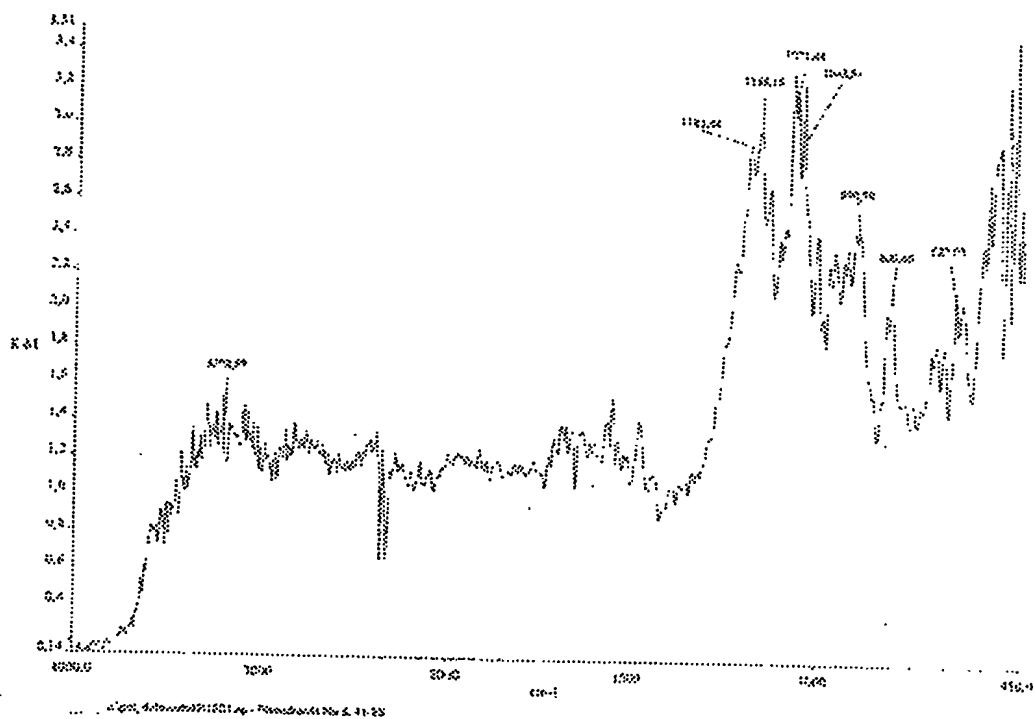
Obrázek 3







obrázek 9



Obrázek 10

CZECH REPUBLIC

The
OFFICE OF INDUSTRIAL PROPERTY

herewith confirms that
LÉČIVA, A.S., Prague, CZ

filed on October 25, 2002

an application of the invention
file No. PV 2002 – 3574

and that the annexed disclosure and 8 drawings are identical
with the originally filed annexes of said application.

Signature - illegible
on behalf of the president: Ing. Jan Mrva

(Round official seal:)
OFFICE OF INDUSTRIAL PROPERTY
PRAGUE

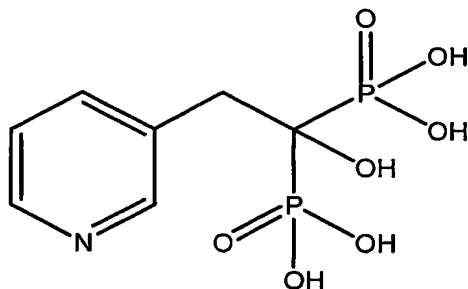
(Round stamp:)
OFFICE OF INDUSTRIAL PROPERTY

Prague, October 2, 2003

A new crystalline form of the sodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid

Technical Field

The invention concerns new crystalline hydrates of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid of formula



risedronic acid

and its salts, resp., and a method of their production.

Background Art

Geminal bisphosphonates, such as for example salts of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid (risedronate) or 4-amino-1-hydroxybutylidene-1,1-bisphosphonic acid (alendronate), have been used for quite some time to treat bone diseases and for management of the metabolism of calcium.

Preparation of risedronic acid consists in reaction of 3-pyridylacetic acid with phosphoric and phosphorus trichloride with subsequent hydrolysis of resulting intermediates. The general method of this preparation of bisphosphonic acids was mentioned in JP 80-98193 (1980), JP 80-98105 (1980) of Nissan Chemical Industries and in an article W. Ploger et al., Z. Anorg. Allg. Chem., 389, 119, (1972). A preparation of risedronate was published in EP 186405 (1986) of Procter & Gamble.

Bisphosphonic acids are used in the form of various non-toxic and pharmaceutically acceptable esters, alkali metal salts and salts of alkaline-earth metals and their various hydrates. The form of the substance can have a fundamental influence on its solubility and its biological availability. The preferred forms of risedronate are the sodium and calcium salts.

3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid is used mainly in the form of its mono-sodium salt (sodium risedronate). This salt, similarly as a number of other geminal bisphosphonic acids and their salts, is capable of forming hydrates. So far, anhydrous crystalline form of mono-sodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate, its monohydrate and pentahemihydrate have been described in the application WO 0156983 A2 of Procter & Gamble. Of the two mentioned hydrates, only the pentahemihydrate form is thermodynamically stable. The monohydrate undergoes a spontaneous transformation to the stable pentahemihydrate.

A disadvantage of lower hydrates or anhydrous forms of monosodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate is their hygroscopicity and related instability of the content of the active substance. A decrease of the active substance content with time translates into the substance's limited storage time. Hygroscopicity can also lead to instability of a pharmaceutical preparation. For example, tablets can disintegrate under the influence of air humidity.

In case of a pharmaceutical preparation containing a mixture of the monohydrate and hemipentahydrate of monosodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate, as it is described in WO 0156983, especially the monohydrate, which is known not to be thermodynamically stable, can be a source of instability.

Solutions involving double or hermetically sealed packaging, or addition of a desiccant into the package, always result in additional production costs.

The present invention, which concerns new stable hydrates of the sodium salts of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid, solves this problem. These hydrates are, in addition, better soluble in diluted hydrochloric acid, which makes up stomach juices.

Disclosure of Invention

Definitions of the terms used in the description of this invention:

The term risedronic acid refers to 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid.

The term risedronate stands for both risedronic acid and its pharmaceutically acceptable salts.

The term risedronate sodium salt monohydrate refers to a crystalline form of monosodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate which contains from 5 to 7.1 w.% of water and from 5.5 to 7.5% of sodium based on the anhydrous salt.

The term risedronate sodium salt pentahemihydrate stands for a crystalline form of monosodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate which contains from 11.9 to 13.9 w.% of water and from 5.5 to 7.5% of sodium based on the anhydrous salt.

The term risedronate sodium salt pentahydrate stands for a crystalline form of monosodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate which contains from 20 to 23 w.% of water and from 5.5 to 7.5% of sodium based on the anhydrous salt.

The term risedronate disodium salt monohydrate stands for a crystalline form of disodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate which contains from 4.5 to 6.5 % of water and from 13 to 15% of sodium based on the anhydrous salt.

The term risedronate trisodium salt trihydrate stands for a crystalline form of trisodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate which contains from 12 to 14 % of water and from 19 to 21% of sodium based on the anhydrous salt.

If not specified otherwise, all the percentage data herein are given in weight percents.

Our invention concerns sodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate (sodium risedronate) in so-far-undocumented crystalline forms. More specifically, they are hydrates which contain 6.4 up to 22% of sodium and simultaneously 15 up to 23% of crystalline water if the sodium content is lower than 7.5%, or 4.5 up to 18% if the sodium content is higher than 7.5%.

An useful example of such a hydrate is a modification that is characterized by water content 20 up to 23%, specially with 22.8 w.% of water, and sodium content 5.5 up to 7.5%, specially 6.4 up to 6.7 w.%. The specified water content is built in the crystal lattice and the mentioned crystalline modification is thermodynamically stable. By drying with several different drying regimes, the mentioned crystalline modification was dried to the water content corresponding to the pentahemihydrate, the monohydrate and the anhydrous form of sodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate. When the substance is left standing on the air, the water content stabilizes spontaneously at the original level. Time that it takes for the water content to stabilize depends on relative humidity in the environment in which the dried substance is placed. It ranges from 2 up to 12 hours for the substance dried to the pentahemihydrate level and from 2 hours up to 12 days for the substance dried to the monohydrate level.

The mentioned new crystalline form is also characterized by better solubility in 0.1 N hydrochloric acid (pH 1.1), which is advantageous for biological availability of the substance.

The new crystalline form was further characterized by a powder X-ray diffraction pattern, infrared spectroscopy, CP-MAS NMR in solid phase and thermogravimetric analysis.

A preferable structure of the hydrate is characterized by the diffraction pattern with interplanar distances d approximately 16.3; 13.0; 9.1 and 4.9 Å.

A different characteristic is provided by the infrared spectrum with bands 1169; 1060; 1046 and 891 cm^{-1} .

The thermogravimetric analysis of a preferable composition yields the inflexion point at temperature about 173 °C.

Another characteristic of a preferable structure of the hydrate having the given composition is ^{31}P CP-MAS NMR spectrum, which yields signals 13.7 and 20.0 ppm. With this doublet, it significantly differs from previously known pentahemihydrate, which yields the corresponding singlet with a shift of about 15.9 ppm.

Sodium risedronate hydrate containing 12 up to 14% of water and 19 up to 21% of sodium based on the anhydrous salt is another substance having preferable characteristics. When this substance is dried at different conditions and subsequently left to stand in an environment with high relative humidity, the water content also stabilizes at the given value in a period ranging from 2 hours up to 12 days, but mostly in less than 12 hours. Accordingly, this modification is also stable in a humid environment.

A preferable structure of the substance is characterized by the infrared spectrum with bands of approximately 1114; 1085; 956; 616 and 544 cm^{-1} .

Risedronate disodium salt monohydrate that contains 4.5 up to 6.5% of water and 13 up to 15% of sodium based on the anhydrous salt is another preferred substance. When this substance is dried at different conditions and subsequently left to stand in an environment with high relative humidity, the water content also stabilizes at the given value in a period ranging from 2 hours up to 12 days, but mostly in less than 12 hours. Accordingly, this modification is also stable in a humid environment.

A preferable structure of the substance is characterized by the infrared spectrum with bands of approximately 1183; 1158; 1071 and 1042 cm^{-1} .

Preparation of hydrates of sodium salts of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate in new crystalline forms consists in preparing an aqueous solution of sodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate, heating the solution to temperature 50 up to 80 °C, and pouring it into an overcooled organic solvent, especially one from the group of

simple alcohols from the C₁ to C₅ series, particularly 2-propanol. It is advantageous to use seeding with several small crystals of the appropriate hydrate.

Thanks to their stability in humid environment, these new hydrates of the sodium salts of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid are useful as an active substance for treatment of diseases associated with bone-resorption disorders. These diseases include above all osteoporosis, both that associated with a hormonal change in a certain stage of women's lives and that induced by using various preparations.

An oral dosage form, especially in the tablet form, is a preferred one for using these hydrates. Besides the active substance, suitable diluents, binders, disintegrants and sliding agents are used for producing the tablet.

A directly compressible blend wherein a mixture of mannitol and microcrystalline cellulose plays the role of a diluent is an extraordinarily suitable combination. This combination shows exceptional stability, especially in a humid environment.

Brief Description of Drawings

Figure 1 represents an XR diffraction pattern of risedronate monosodium salt pentahydrate.

Figure 2 represents a comparative XR diffraction pattern of risedronate monosodium salt pentahemihydrate.

Figure 3 represents a TGA of pentahydrate of monosodium salt of risedronate.

Figure 4 represents a comparative TGA of risedronate monosodium salt pentahemihydrate.

Figure 5 represents a ³¹P CP-MAS NMR spectrum of risedronate monosodium salt pentahydrate.

Figure 6 represents a comparative ³¹P CP-MAS NMR spectrum of risedronate monosodium salt pentahemihydrate.

Figure 7 represents an IR spectrum of risedronate monosodium salt pentahydrate.

Figure 8 represents a comparative IR spectrum of risedronate monosodium salt pentahemihydrate.

Figure 9 represents an IR spectrum of risedronate trisodium salt trihydrate.

Figure 10 represents an IR spectrum of risedronate disodium salt monhydrate.

Examples

Water content in the substance was determined using a method according to Karl Fischer and TGA analyses. Sodium content in the substance was determined using acidobasic titration and AAS. Solubility tests were performed according to the Technical Guide European Pharmacopeia.

Example 1

Monohydrate of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid is dissolved in a 30-fold volume of distilled water containing one equivalent of sodium hydroxide. The solution is heated to 80 °C and at one bout poured into a 120-fold volume of 2-propanol cooled to temperature -7 up to -10 °C. After mixing, temperature of the solution climbs to about +7 °C. Within 5 minutes, the emergent suspension cools down to -1 °C. The emergent suspension is kept at this temperature for 4 hours. The product is isolated using filtration and it is air dried.

According to the KF test, the product contains approximately 22.8 weight % of water. Sodium AAS analysis recalculated to dry basis demonstrated that the product contains 6.6 weight % of sodium. The prepared substance yielded the diffraction pattern depicted in Figure 1 and the ³¹P CP-MAS NMR spectrum depicted in Figure 5.

Example 2

In risedronate monosodium salt pentahydrate (water content about 22.8 weight %) dried in a vacuum oven at 50 °C, the substance's water content decreases to 11.5 % after six hours. The dried product is hygroscopic. If the substance is left standing at room temperature and usual relative air humidity, the water content returns to the original level within 12 hours.

Example 3

In the pentahydrate dried in a vacuum oven at 105 °C, the substance's water content decreases to 3 % after six hours. The dried product is hygroscopic. If the substance is left standing at room temperature and usual relative air humidity, the water content increases with a speed of about 0.5% an hour. Within 11 days, the substance's water content returns to about

20 weight %. If the substance is placed in an environment with 100% relative air humidity, the substance's water content returns to 22.7 % within two hours. Such water content is stable and does not change at usual lab conditions.

Example 4

3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid is dissolved in an aqueous hydroxide solution containing four equivalents of NaOH. The solution is heated to 70 °C and poured into 2-propanol overcooled to temperature -7 up to -10 °C. Gradually, a semi-solid milky matter falls out, which disintegrates at temperature of the solvent reflux into a solid white suspension. After filtration and drying in a vacuum oven, one gets the product with 97% yield. Trisodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate containing about 19.8 weight % of sodium (based on the dry salt) and about 12.7 % of water is the product. This amount of contained water corresponds to the trihydrate of trisodium 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate. The infrared spectrum of thus obtained substance is depicted in Figure 9.

When 1 molar equivalent of the trisodium salt is dissolved in water a clear solution is obtained. With addition of two molar equivalents of risedronic acid and heating to 70 °C, a clear solution is obtained of the monosodium salt, which is obtained according to example 1 in the new crystalline form containing about 22.8 % of water.

Example 5

3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid is dissolved in an aqueous hydroxide solution containing two equivalents of NaOH. The solution is heated to 70 °C and poured into 2-propanol overcooled to temperature -7 up to -10 °C. A jelly-like milky matter falls out almost immediately, which disintegrates at temperature of solvent reflux to a solid white suspension. After the suspension is cooled down to the room temperature, the product is isolated using filtration.

The obtained product contains, after air drying, about 14 % of sodium based on the anhydrous substance and about 14 % of water. After drying in a vacuum oven, the water content stabilizes at about 5.2 %. The substance with this stabilized water content yielded the infrared spectrum depicted in Figure 10.

Example 6

0.1 ml; 0.9 ml and 2.0 ml of water were gradually added to a 100.25 mg sample of risedronate monosodium salt pentahemihydrate. The suspension was mixed for about 1 min and tempered to 25 °C for 15 min after each addition of water. At these conditions, the substance was completely dissolved. The proportion of the dissolved substance was determined to be 100% using HPLC.

0.1 ml; 0.9 ml and 2.0 ml of water were gradually added to a 98.78 mg sample of risedronate monosodium salt pentahydrate. The suspension was mixed for about 1 min and tempered to 25 °C for 15 min after each addition of water. At these conditions, the sample of the substance was completely dissolved. The proportion of the dissolved substance was determined to be 100% using HPLC.

Both salts are well soluble in water.

Example 7

0.1 ml; 0.9 ml, 2.0 and 7.0 ml of 0.1 M HCl with pH 1.1 were gradually added to a 106.8 mg sample of risedronate monosodium salt pentahemihydrate. The suspension was mixed for 1 min and tempered to 25 °C for 15 min after each addition of acid. The sample did not dissolve completely. The proportion of the dissolved substance was determined to be 9.46 % using HPLC. Accordingly, by dissolving risedronate monosodium salt pentahemihydrate in 0.1 M HCl one gets a solution having the concentration of the active component 874 mg/l.

0.1 ml; 0.9 ml, 2.0 and 7.0 ml of 0.1 M HCl with pH 1.1 were gradually added to a 99.07 mg sample of risedronate monosodium salt pentahydrate. The suspension was mixed for 1 min and tempered to 25 °C for 15 min after each addition of acid. The sample did not dissolve completely. The proportion of the dissolved substance was determined to be 31.62 % using HPLC. Dissolving risedronate monosodium salt pentahemihydrate in 0.1 M HCl yields a solution with concentration of the active component 2418 mg/l.

This experiment demonstrates that the pentahydrate form of risedronate monosodium salt is significantly more soluble in 0.1M hydrochloric acid than the pentahemihydrate form of risedronate monosodium salt.

Example 8

In trihydrate of the trisodium salt dried in a vacuum oven at 105 °C, the substance's water content decreases to 1.1 % after 6 hours. The dried product is hygroscopic. If the substance is placed in an environment with 100% relative air humidity, the water content returns to the original level within two hours. Such water content is stable and does not change at usual lab conditions.

Example 9

In trihydrate of the disodium salt dried in a vacuum oven at 105 °C, the substance's water content decreases to approximately 1.7 % after 6 hours. The dried product is hygroscopic. If the substance is placed in an environment with 100% relative air humidity, the water content returns to the level of approximately 5.2% within two hours. Such water content is stable and does not change at usual lab conditions.

Example 10

Monohydrate of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid is dissolved in a 10-fold volume of distilled water containing one equivalent of sodium hydroxide. The solution is heated to 80 °C and a 3-fold volume of warm 2-propanol is added. The solution is left to cool spontaneously to ca 62 °C and a small amount of seeding crystals of risedronate monosodium salt pentahydrate is added and the emerging suspension is left to fall out spontaneously. The product is filtrated off at temperature of the mixture 0 °C. The product is air dried.

Using the KF test, the product contains approximately 22.8 weight % of water. Sodium AAS analysis recalculated to dry basis demonstrated that the product contains 6.6 weight % of sodium.

C L A I M S

1. A crystalline, hydrated form of the sodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid, wherein the form contains from 6.4 up to 22 weight % of sodium, based on the anhydrous substance, and 15 up to 23 weight % of crystalline water if the sodium content is lower than 7.5 weight %, or 4.5 up to 18 weight % if the sodium content is higher than 7.5 weight %.
2. The crystalline form according to claim 1, which is pentahydrate of the monosodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid, wherein said form contains 20 up to 23 weight % of water built in the crystal lattice and 5.5 up to 7.5 % of sodium.
3. The crystalline form according to claim 2 wherein said form contains 22.8 weight % of water built in the crystal lattice and 6.4 up to 6.7 % of sodium.
4. The crystalline form according to claims 2 or 3 wherein said form shows a powder X-ray diffraction pattern with interplanar distances d approximately 16.3; 13.0; 9.1 and 4.9 Å.
5. The crystalline form according to claims 2 or 3 wherein said form shows the infrared spectrum with bands 1169; 1060; 1046 and 891 cm^{-1} .
6. The crystalline form according to claims 2 or 3 thermogravimetric analysis of which shows a plateau at temperature of about 173 °C.
7. The crystalline form according to claims 2 or 3 the ^{31}P CP-MAS NMR spectrum of which shows signals 13.7 and 20.0 ppm.
8. The crystalline form according to claim 1, which is trihydrate of the trisodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid, wherein said form contains 19 up to 21 weight % of sodium and 12 up to 14 weight % of water in the crystal lattice.

9. The crystalline form according to claim 8 wherein said form shows the infrared spectrum with bands approximately 1114; 1085; 956 ; 616 and 544 cm^{-1} .
10. The crystalline form according to claim 1, which is monohydrate of the disodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid, wherein said form contains 13 up to 15 weight % of sodium, based on the anhydrous substance, and 4.5 up to 6.5 weight % of water in the crystal lattice.
11. The crystalline form according to claim 10 wherein said form shows the infrared spectrum with bands approximately 1183; 1158; 1071 and 1042 cm^{-1} .
12. A method of manufacture of the crystalline form according to any of the foregoing claims *characterized in* that an aqueous solution of the sodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid heated to 50 up to 80 °C is incorporated into an organic solvent.
13. The method according to claim 12 *characterized in* that the organic solvent is selected from the group of simple alcohols from the C_1 to C_5 series, especially 2-propanol.
14. The method according to any of claims 1 through 11 *characterized in* that seeding crystals of the respective hydrate of the sodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate are introduced into the solution of the sodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid and the solution is slowly cooled.
15. The method according to claim 14 *characterized in* that crystallization is performed from a solution of the sodium salt in a mixture of water and a water-miscible organic substance.
16. A pharmaceutical composition designed for treating diseases associated with a bone-resorption disorder *characterized in* that it contains as the active agent a hydrate of the sodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid according to any of claims 1 through 11 and at least one auxiliary substance.

Abstract

Title of the Invention: A new crystalline form of the sodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid

A crystalline, hydrated form of the sodium salt of 3-pyridyl-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonic acid contains from 6.4 up to 22 weight % of sodium, based on the anhydrous substance, and 15 up to 23 weight % of crystalline water if the sodium content is lower than 7.5 weight %, or 4.5 up to 18 weight % if the sodium content is higher than 7.5 weight %.

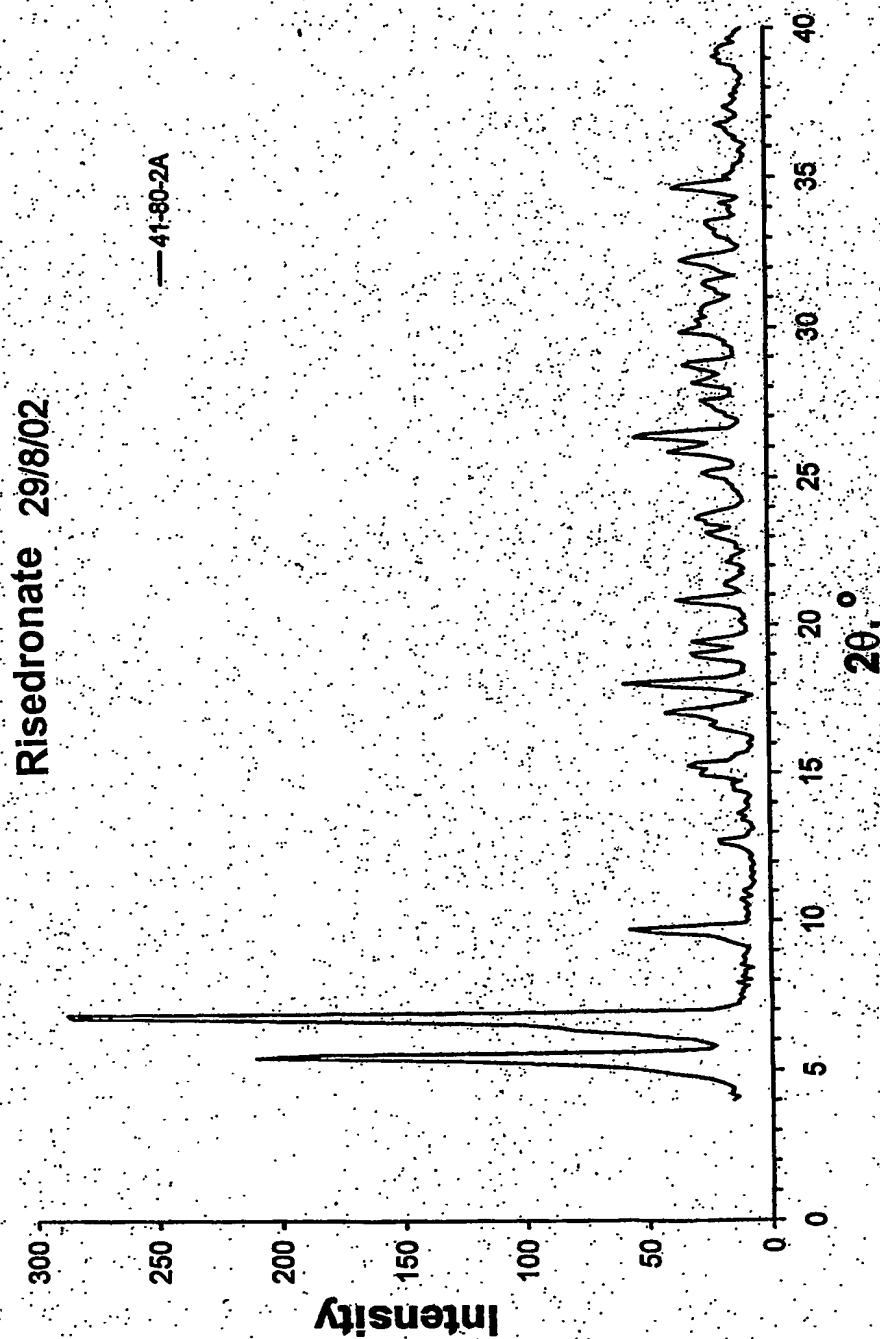


Figure 1

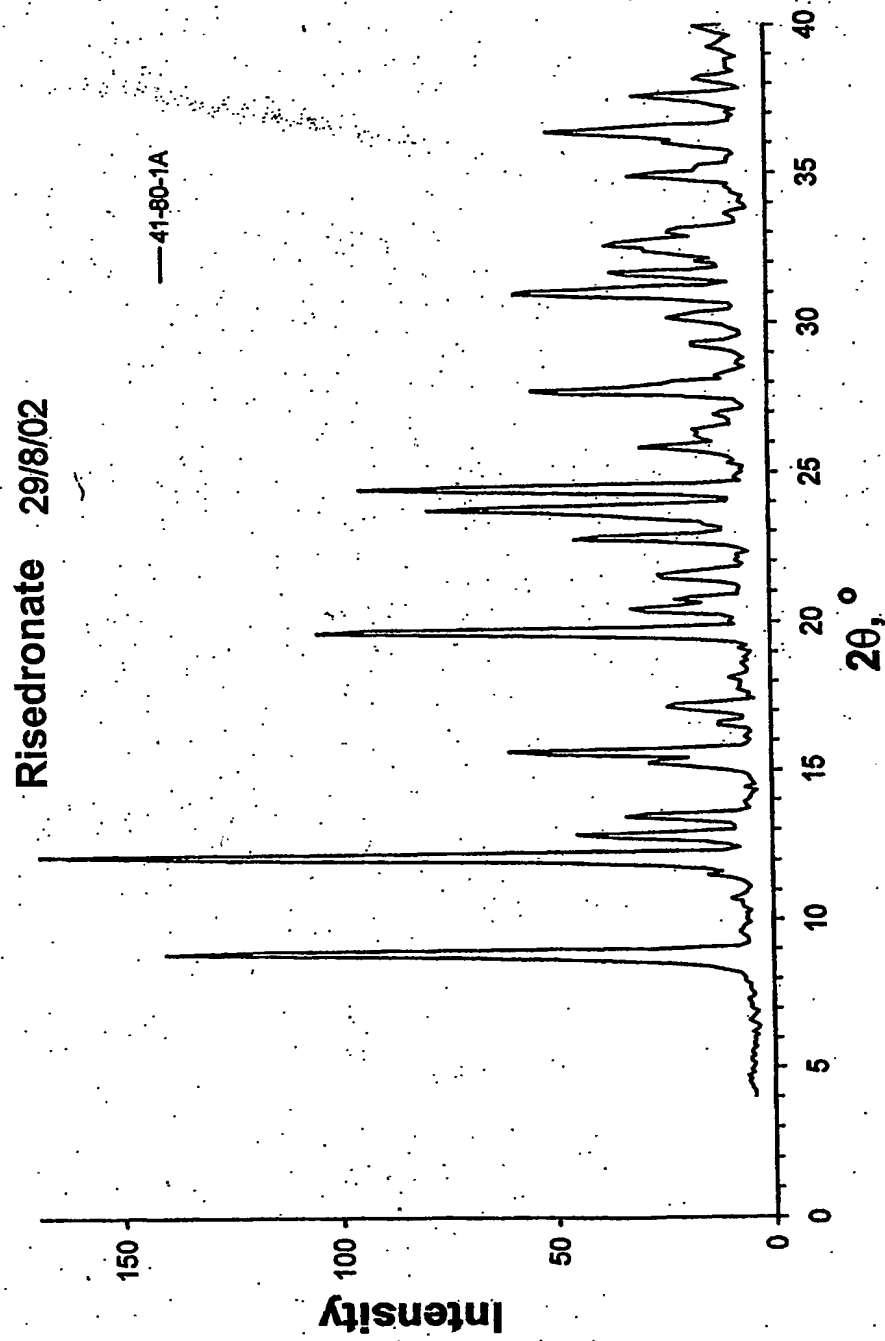


Figure 2

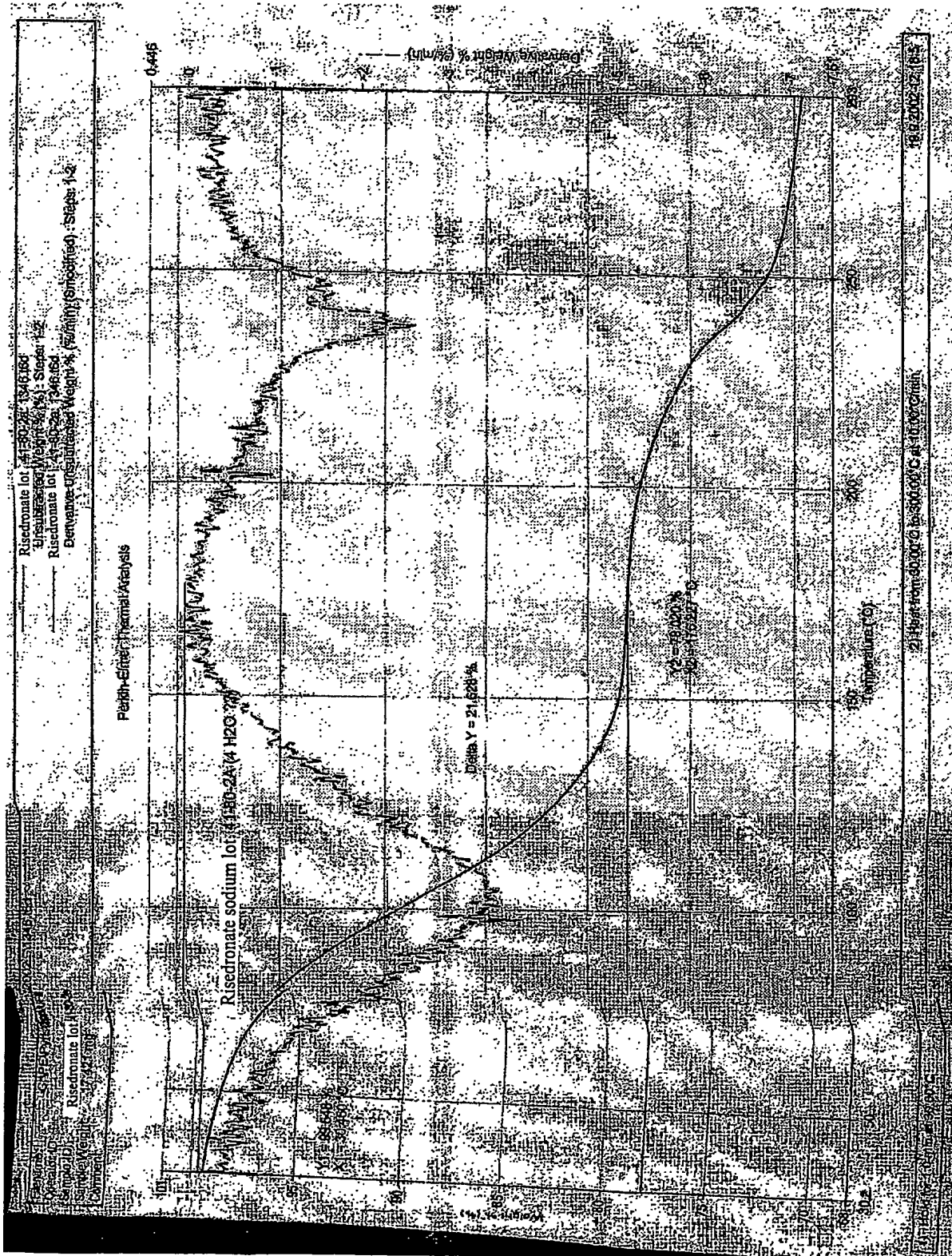


Figure 3

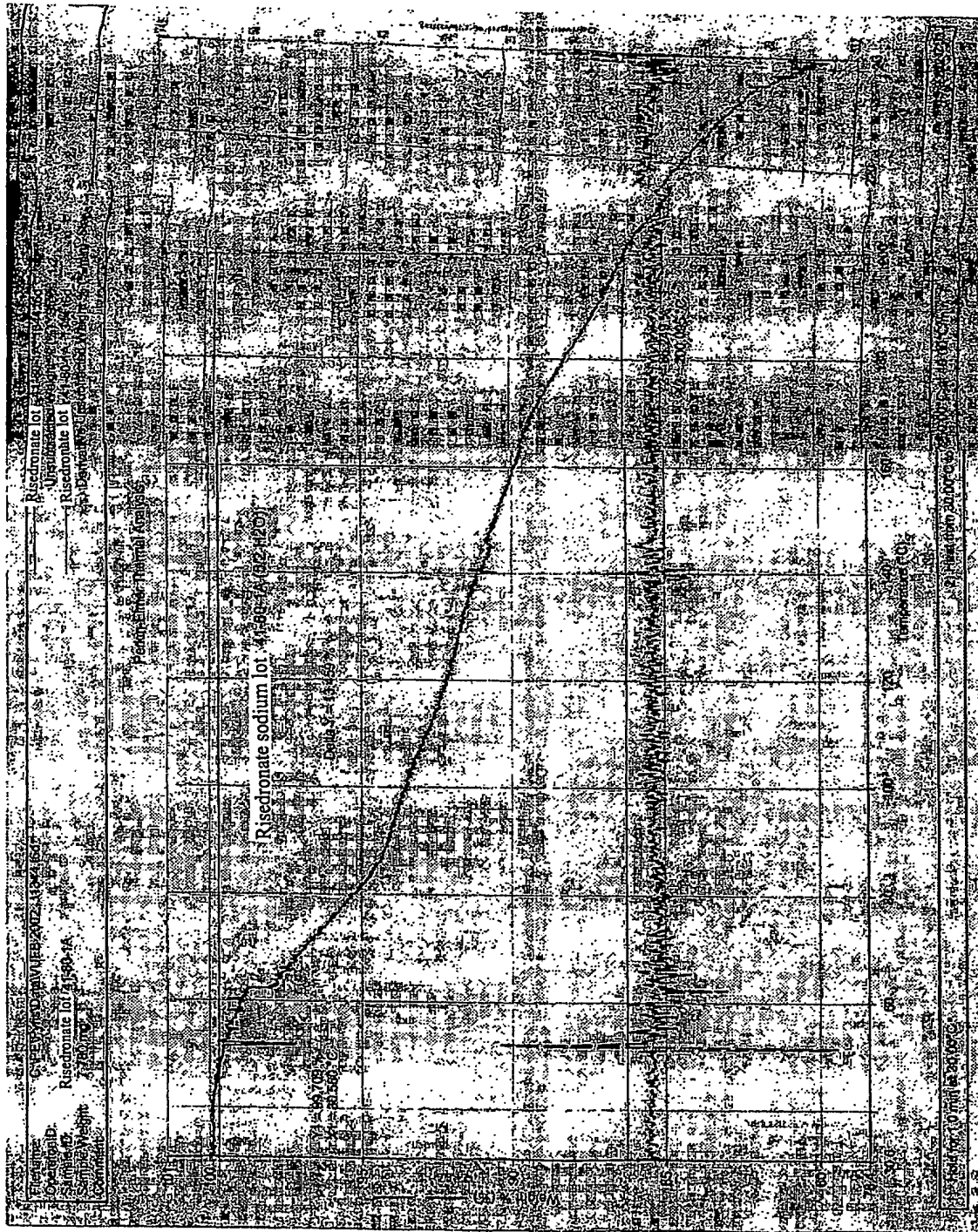


Figure 4

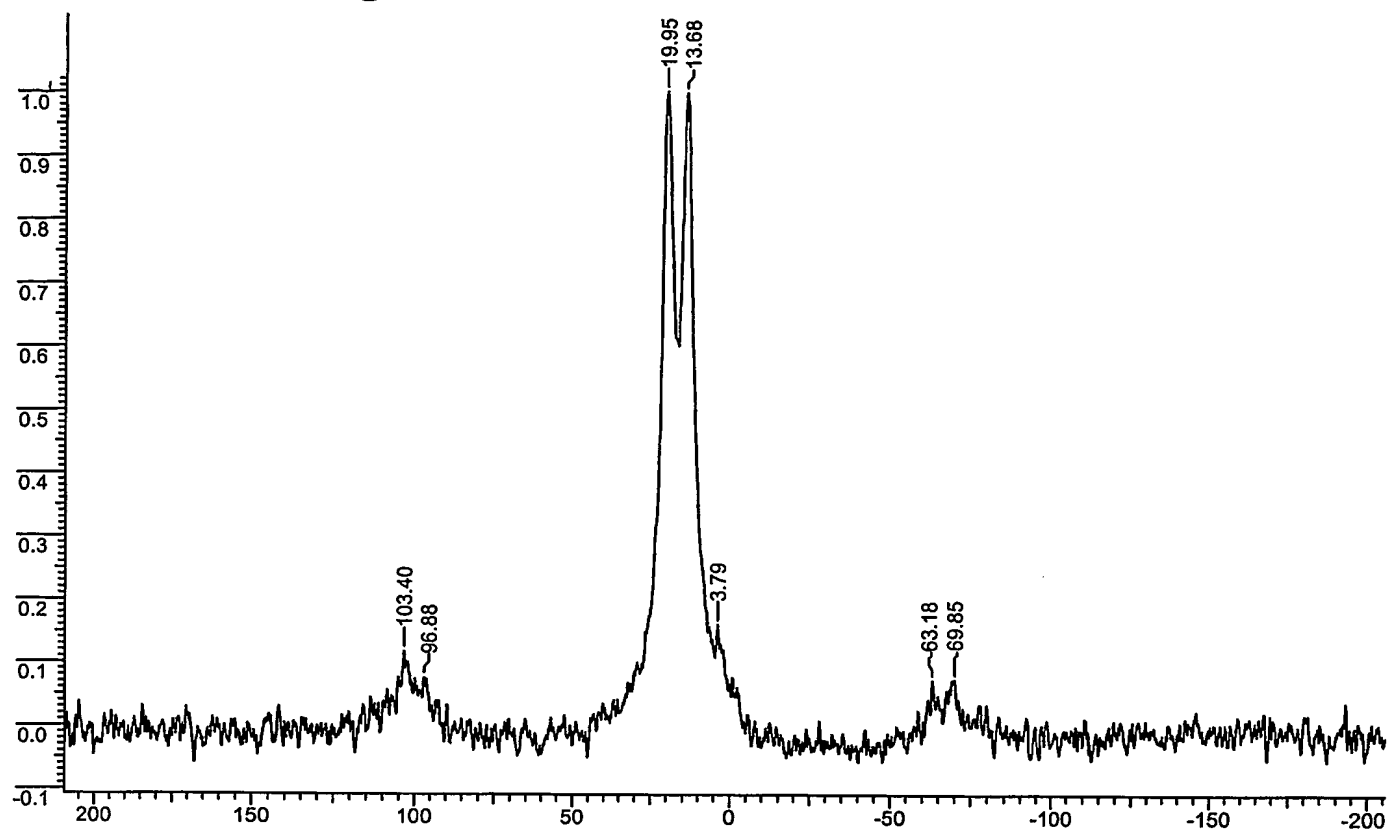


Figure 5

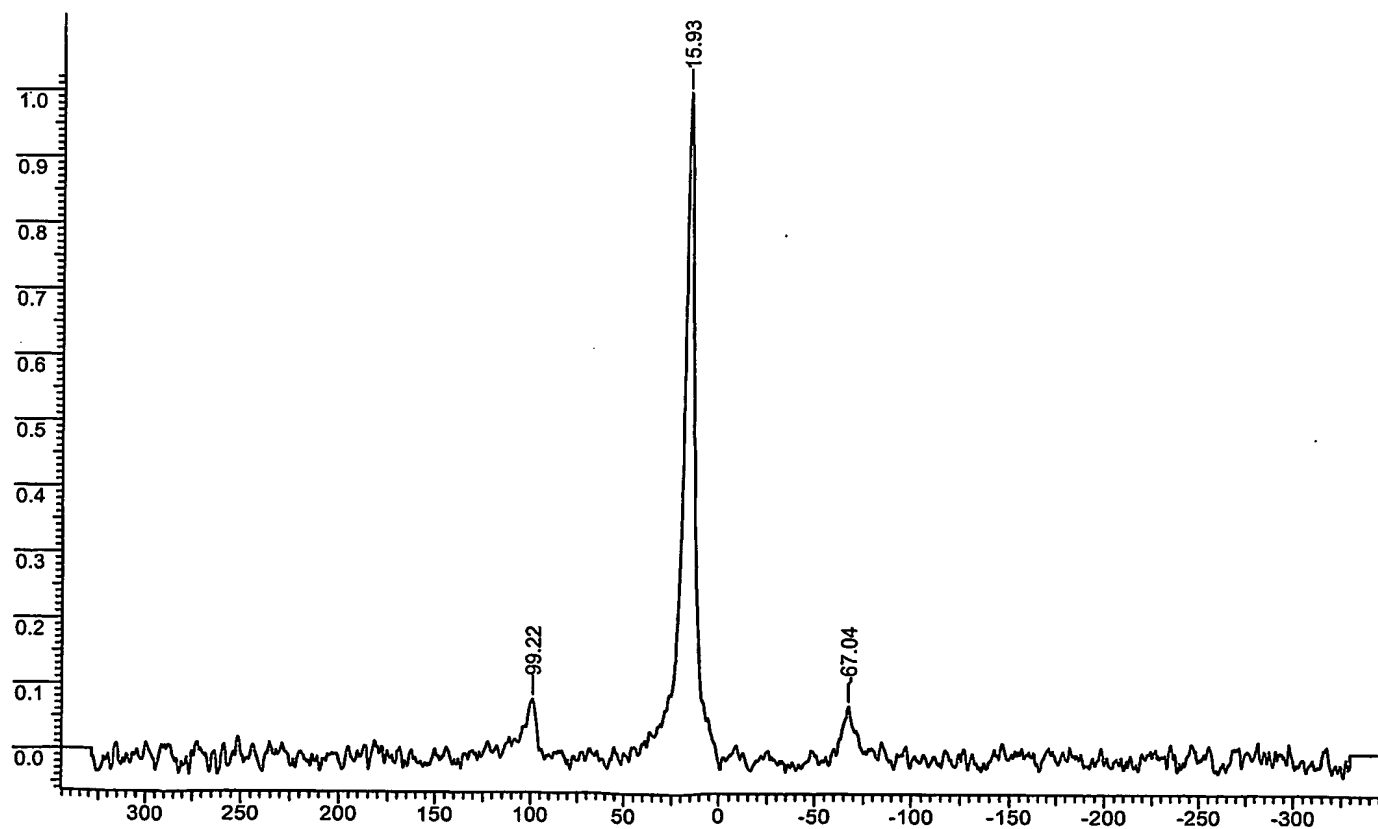


Figure 6

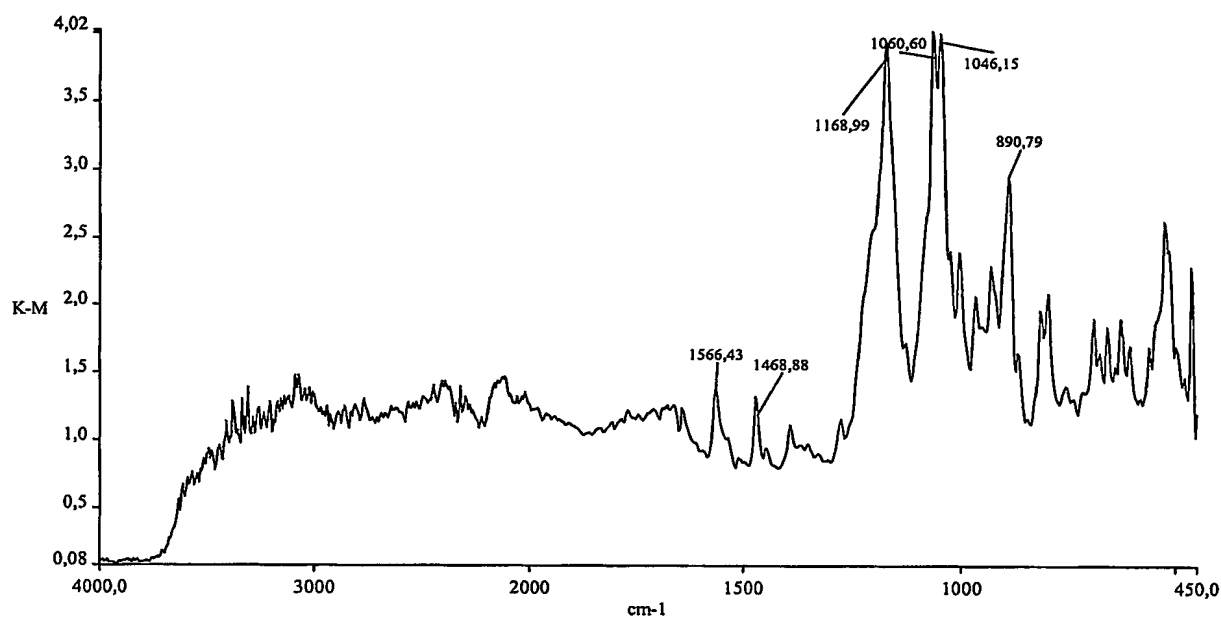


Figure 7

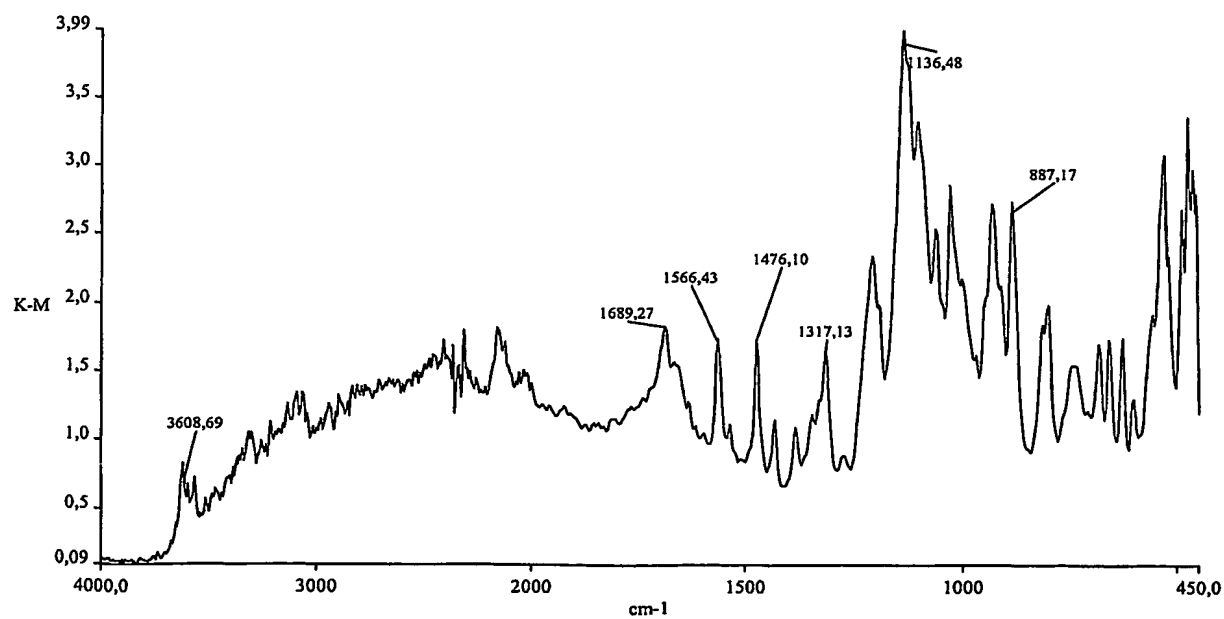


Figure 8

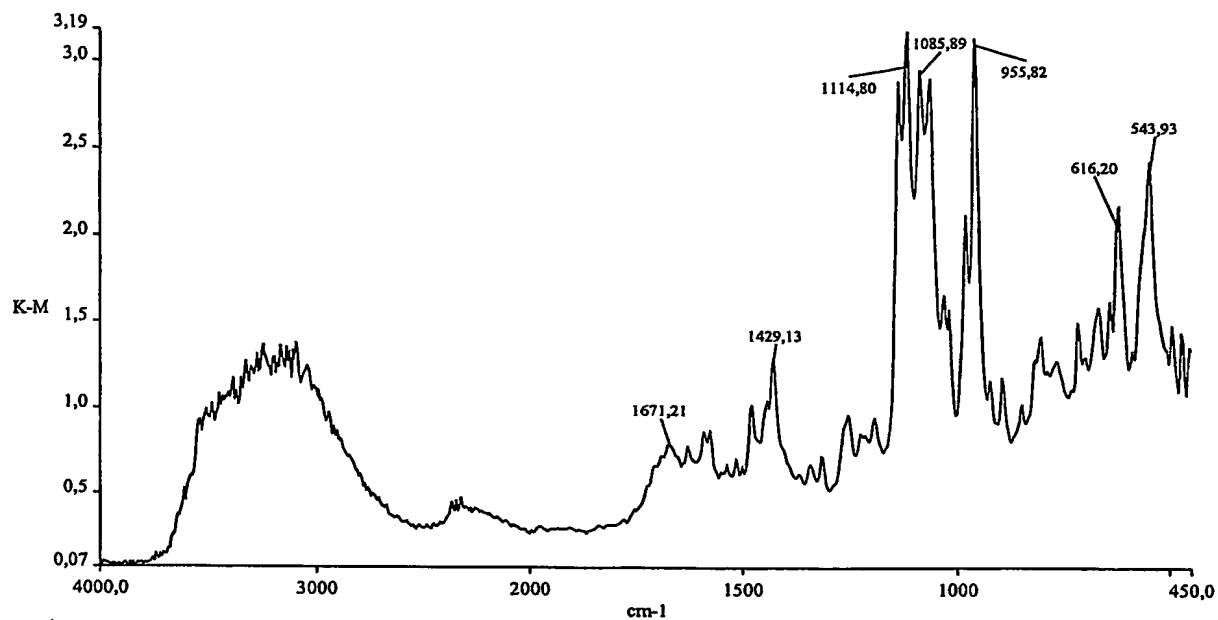


Figure 9

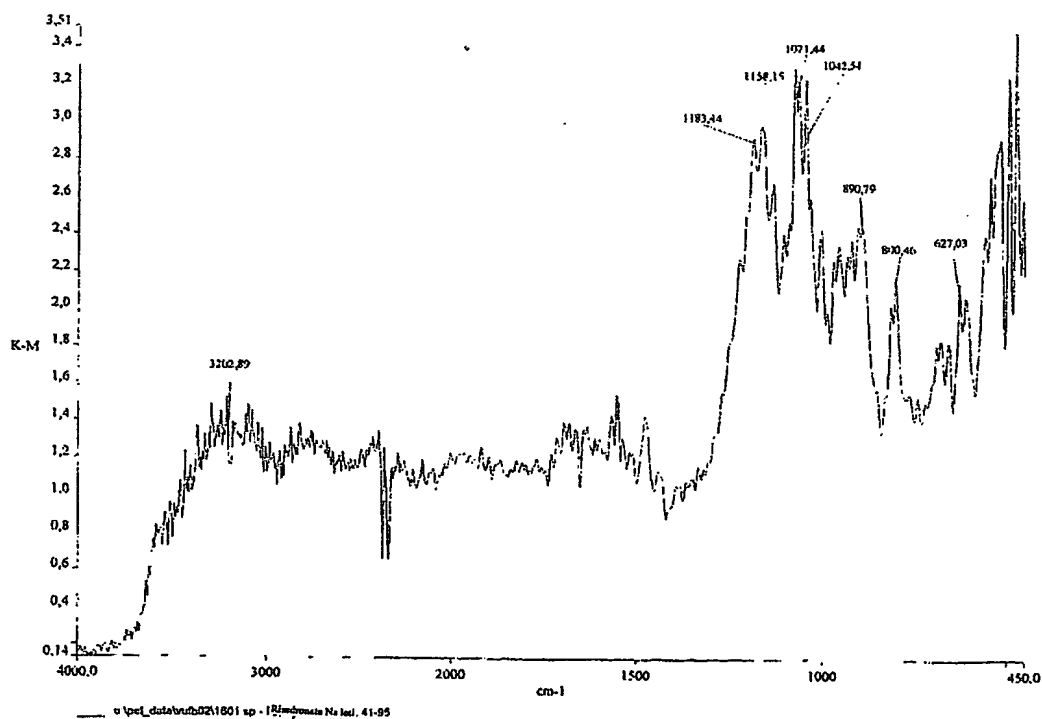


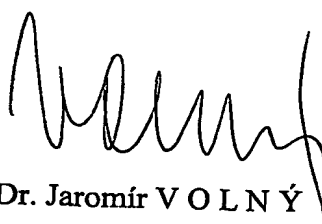
Figure 10

Ref. No. 3656/O3

I undersigned, certify by these presents, with reference to my status as the permanent sworn interpreter of the English language, appointed by the decree of the Ministry of Justice of the Czech Republic from November 5, 1985, Ref. No. ZT 1941/85, that the above is the true and exact translation of the document annexed hereto and written in the Czech language.

Prague, October 12, 2003




JUDr. Jaromír V O L N Ý
Sworn Interpreter